

**AKTIVITAS PENANGKAP RADIKAL BEBAS EKSTRAK ETANOL
DAUN UBI UNGU (*Ipomoea batatas* L.) DENGAN PENGERINGAN
OVEN MENGGUNAKAN METODE DPPH, FTC, DAN TBA**

NASKAH PUBLIKASI



**Oleh :
HIDAYAH ANISA FITRI
K100100001**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

Berjudul:

**AKTIVITAS PENANGKAP RADIKAL BEBAS EKSTRAK
ETANOL DAUN UBI UNGU (*Ipomoea batatas* L.) DENGAN
PENGERINGAN OVEN MENGGUNAKAN METODE DPPH,
FTC, DAN TBA**

Oleh:

HIDAYAH ANISA FITRI

K 100 100 001

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada tanggal :15 Februari 2014**



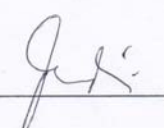
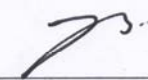
**Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,**



Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

Penguji :

- 1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt.**
- 2. Dedi Hanwar, M.Si., Apt.**
- 3. Broto Santoso, M.Sc., Apt.**
- 4. Andi Suhendi, S.Farm., Apt.**

**AKTIVITAS PENANGKAP RADIKAL BEBAS EKSTRAK ETANOL DAUN UBI
UNGU (*Ipomoea batatas* L.) DENGAN PENGERINGAN OVEN
MENGUNAKAN METODE DPPH, FTC, DAN TBA**

***RADICAL SCAVENGING ACTIVITY ETHANOL EXTRACT OF SWEET PURPLE
POTATO LEAF (*Ipomoea batatas* L.) WITH OVEN DRYING USING DPPH,
FTC, AND TBA METHOD.***

Hidayah Anisa Fitri* Broto Santoso dan Andi Suhendi

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. Ahmad Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102

*Email : hidayahadiah@gmail.com

ABSTRAK

Daun ubi ungu memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Metode pengeringan daun berpengaruh terhadap kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya sehingga mempengaruhi besarnya aktivitas antioksidannya. Metode pengeringan oven merupakan metode pengeringan yang lebih baik dibandingkan dengan pengeringan dengan sinar matahari. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ubi ungu yang daunnya dikeringkan dengan metode oven (EA) dan membandingkannya dengan ekstrak yang daunnya dikeringkan dengan sinar matahari (EB). Besarnya Aktivitas antioksidan EA dan EB diukur secara spektrofotometri dengan metode DPPH, FTC, dan TBA. Kandungan Fenolik total EA dan EB secara berturut turut adalah 30,22 mg/g GAE dan 17,615 mg/g GAE. Sedangkan kandungan flavonoid total kedua ekstrak adalah 4,67 mg/g QE dan 8,041 mg/g QE. IC₅₀ EA dan EB yang diukur dengan metode DPPH sebesar 93,945 ppm dan 64,525 ppm. Pengukuran daya hambat ekstrak terhadap peristiwa peroksidasi lemak dilakukan dengan metode FTC dan TBA. Hasil menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 400 ppm EA dan EB dapat memberikan daya penghambatan sebesar 27,24% dan 8,68% diukur dengan metode FTC. Sedangkan pengukuran dengan metode TBA sebesar 78,78% dan 76,03%. Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid total memberikan korelasi terhadap aktivitas antioksidannya bila diukur dengan metode DPPH, sedangkan untuk metode FTC dan TBA belum diketahui.

Kata kunci: daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.), antioksidan, DPPH, FTC, TBA.

ABSTRACT

Sweet Purple potato leaves has antioxidant activity because it contains of phenolic and flavonoid compounds. Drying methods can affect the total content of phenolic and flavonoid compounds and its antioxidant activity. Drying leaves with oven was better than drying with sunlight. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of the ethanol extract of sweet purple potato leaf from leaves which dried by oven heating (EA) and compare it with the leaf extract from leaves which dried by sunlight (EB). The amount of antioxidant activity of EA and EB measured by spectrophotometric using DPPH, FTC, and TBA method. The total phenolic compounds of EA and EB respectively is 30.22 mg/g GAE and 17.615 mg/g GAE. While their total flavonoid compound respectively is 4.67 mg/g QE and 8.041 mg/g QE. The IC₅₀ of EA and EB which measured with DPPH method was 93.945 ppm and 64.525 ppm . FTC and TBA methods were the methods for measuring inhibition potency of extract in lipid peroxidation reaction. The results showed that the concentration of EA and EPB in 400 ppm, had 27.24 % and 8.68 % inhibition potency measured by the FTC method respectively, and measurement with TBA method was 78.78 % and 76.03 %. The total phenolic and flavonoid contents in extracts had correlation to its antioxidant activity in the DPPH method measurement, but not yet known for the FTC and TBA method measurement.

Keywords : Sweet potato leaves (*Ipomoea batatas* L.), antioxidant, DPPH, FTC, TBA

PENDAHULUAN

Radikal bebas secara normal diproduksi oleh tubuh sebagai hasil samping metabolisme aerob (Fang *et al.*, 2002). Apabila produksinya berlebih, maka radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan sel termasuk lemak, membran, protein dan DNA (Valko *et al.*, 2006). Adanya paparan radiasi sinar matahari juga menyebabkan terbentuknya spesi oksigen reaktif yang juga menyebabkan kerusakan biomolekul dalam tubuh (Fang *et al.*, 2002). Ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan enzim antioksidan alami dalam tubuh (seperti SOD, GPx, CAT, dan lain sebagainya) dapat menurunkan ketahanan tubuh terhadap kerusakan dan penyakit (Valko *et al.*, 2006). Salah satu akibat merugikan yang ditimbulkan oleh adanya radikal bebas pada tubuh manusia adalah oksidasi lipid atau lipid peroksidasi. (Mylonas & Kuretas, 1999).

Pengaturan asupan nutrisi yang kaya akan zat antioksidan dapat menghambat peristiwa oksidasi tubuh dengan mekanisme aksi sinergis bersama dengan enzim-enzim antioksidan endogen dalam tubuh (Madhavi *et al.*, 1996). Antioksidan alami yang terkandung dalam buah dan sayur seperti senyawa polifenol misalnya asam fenolat dan flavonoid dapat berikatan dengan radikal bebas seperti peroksida dan hidroperoksida atau lemak peroksid, sehingga dapat menghambat mekanisme oksidasi dalam tubuh (Prakash, 2001).

Salah satu sumber antioksidan alami yang baik bagi tubuh adalah daun ubi ungu. Daun ubi ungu memiliki kandungan senyawa polifenol yang lebih tinggi dibandingkan pada sayuran lain seperti bayam, brokoli, kubis selada, dan lain sebagainya (Islam, 2006). Penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak metanol, etanol dan air daun *I. batatas* yang tumbuh di beberapa negara seperti Malaysia, Amerika, dan Kroasia menunjukkan bahwa daun ubi ungu memiliki aktivitas antioksidan yang potensial dan besarnya aktivitas antioksidannya dipengaruhi oleh besarnya kandungan senyawa fenolik dan flavonoid totalnya (Hue *et al.*, 2012; Islam *et al.*, 2009 ; Koncic *et al.*, 2012).

Proses pengeringan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa fenolik dan flavonoid total dalam suatu simplisia sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidannya (Hernani & Nurdjanah, 2009). Simplisia daun dapat dikeringkan dengan metode pemanasan oven. Metode ini lebih baik daripada pengeringan dengan cahaya matahari di tempat terbuka karena suhunya dapat lebih terjaga dan optimum, lebih higienis

karena simplisia dikeringkan dalam ruang tertutup, dan waktu pengeringan relatif lebih cepat (pengeringan tidak bergantung pada cuaca) (Sembiring, 2007).

Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *I. batatas* L. yang diambil dari daerah Karanglo, Tawangmangu, Jawa Tengah yang daunnya dikeringkan dengan pengeringan oven dan sinar matahari. Besarnya aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *I. batatas* L. diukur dengan menggunakan tiga metode yaitu dengan metode DPPH, FTC dan TBA. Metode DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak terhadap oksidan reaktif DPPH sedangkan metode FTC dan TBA digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak terhadap peristiwa peroksidasi lemak.

METODE PENELITIAN

1. Ekstraksi

Ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak etanol dilakukan dengan mencuci bersih daun ubi ungu dengan air, kemudian kurang lebih 2 kg daun dikeringkan dengan oven pada suhu 40° C selama tiga hari sedangkan 2 kg lainnya dikeringkan dengan sinar matahari sampai kering. Daun daun yang telah kering kemudian dihaluskan dengan blender.

Daun yang telah halus kemudian diekstraksi dengan metode maserasi, yaitu dengan cara merendam sampel dalam pelarut etanol 96%. Hasil ekstraksi kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60° C sehingga diperoleh ekstrak kasar etanol (Marliana, 2012). Ekstrak kasar etanol kemudian dikentalkan dengan *waterbath* pada suhu 60° C sampai diperoleh ekstrak kental.

2. Uji Kualitatif (Metode visual dengan pereaksi semprot dan KLT)

Uji kualitatif visual dan KLT dilakukan dengan menotolkan ekstrak diatas lempeng KLT silika. Untuk mengetahui adanya aktifitas antioksidan, totolan disemprot dengan reagen semprot DPPH. Untuk mengetahui kandungan senyawa fenolik dan flavonoid menggunakan reagen semprot FeCl₃ dan sitroborat. Untuk mengetahui profil KLT, totolan dilakukann Elusi menggunakan fase gerak campuran n-heksan dan etil asetat (4:1). Hasil elusi dilihat pada uv 366 nm dan dibandingkan dengan senyawa pembandingnya. Senyawa pembanding yang digunakan adalah vitamin C, kuersetin, dan asam galat.

3. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Penentuan kadar flavonoid total seperti yang telah dilakukan oleh Rezaeizadeh *et al* (2011) yang telah dimodifikasi. 0,5 mL sampel (0,4%) dicampur dengan 1,5 mL etanol absolut pa, 0,1 mL Na aseta 1M, dan 2,8 mL air suling. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 26 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal 382 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekivalen milligram quersetin (QE) per gram ekstrak (mg QE/g ekstrak). Kurva standar disiapkan dengan membuat seri konsentrasi quersetin (0,035; 0,030; 0,025; 0,020; dan 0,015 % b/v).

4. Penentuan Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar fenolik total ekstrak *I. batatas* dapat dihitung kadarnya dengan metode yang dilakukan oleh Rezaeizadeh *et al* (2011) yang telah dimodifikasi. Caranya yaitu dengan menambahkan 0,5 mL ekstrak dengan konsentrasi 0,3% dengan 4,5 mL air suling terdeionisasi dan 0,5 mL pereaksi Folin Ciocalteu. Setelah dicampur dalam tabung dibiarkan selama 5 menit kemudian ditambahkan 5 mL Na Karbonat 7% dan 2 mL air suling terdeionisasi. Campuran kemudian diinkubasi selama 86 menit pada suhu kamar. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 814 nm. Kadar fenolik total dihitung sebagai milligram asam galat (GAE) per gram ekstrak. Kurva standar dibuat dengan pengukuran absorbansi asam galat dengan seri konsentrasi 0,050; 0,030; 0,010; 0,008; dan 0,006 % b/v.

5. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sesuai dengan yang dilakukan oleh Rezaeizadeh, *et al.* (2011) dengan sedikit perubahan pada panjang gelombang maksimal untuk pembacaan absorbansi. 3 mL ekstrak *Ipomoea batatas* L. dengan enam seri konsentrasi (125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125 ppm). Kemudian dicampur dengan 1 mL larutan etanol DPPH 0.1 mM dan diadkan 5 mL dengan etanol absolut p.a. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm dengan interval waktu 30 menit dan dibandingkan dengan larutan blangko (etanol saja). Selanjutnya, dihitung kadar hambat ekstrak. Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus dan dicari nilai IC_{50} nya.

Nilai IC_{50} menggambarkan besarnya konsentrasi dari ekstrak uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% melalui persamaan garis regresi linier yang

menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa (sampel) uji (X) dengan aktivitas penangkap radikal rata – rata (Y) dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC_{50} nya maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal lebih baik (Cholisoh dan Utami, 2008).

6. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode FTC dan TBA

Uji aktivitas antioksidan dengan metode FTC dan TBA menggunakan cara seperti yang dideskripsikan dalam percobaan yang dilakukan oleh Rezaeizadeh *et al.* (2011) dengan modifikasi. Untuk uji dengan metode FTC 10 mg ekstrak dan standar Vitamin C dilarutkan dengan 4 mL etanol absolut p.a., kemudian ditambahkan 4,1 mL 2,52% asam oleat dalam etanol absolut, 3,9 mL air suling dan ditambah dengan 0,02 M buffer fosfat (pH 7,0) sampai 25 mL dalam labu takar. Campuran ini disebut dengan larutan stok dan disimpan pada suhu 40° C. Untuk pembacaan diambil 0,1 mL larutan stok, kemudian ditambahkan 9,7 mL etanol 75% v/v dan 0,1 mL ammonium tiosianat 30%. Tiga menit setelah ditambahkan 0,1 mL besi klorida 2×10^{-2} M, campuran kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm dengan spektrofotometer visibel. Langkah ini diulangi tiap 24 jam sampai larutan kontrol mencapai nilai absorbansi maksimal. Kontrol yang digunakan adalah campuran tanpa sampel.

Sedangkan untuk metode TBA adalah 2 mL ekstrak dan larutan standar (yaitu larutan stok FTC pada hari ketujuh) ditambahkan 1mL larutan air asam trikloro asetat 20% dan 2 mL larutan air asam thiobarbiturat 0,67%. Setelah dididihkan selama 10 menit, sampel didinginkan. Setelah itu dimasukkan tube dan disentrifugasi 3000 rpm selama 30 menit. Ukur absorbansi supernatannya pada panjang gelombang 532 nm dengan spektrofotometer uv-vis. Besarnya aktivitas antioksidan dengan metode ini dinyatakan dengan persentase kadar hambat.

ANALISA DATA

Penetapan kadar fenolik total dihitung sebagai miligram asam galat per gram ekstrak (GAE). Penetapan dilakukan melalui persamaan regresi linier dengan memasukkan data absorbansi ekstrak pada konsentrasi tertentu sebagai fungsi (Y) dalam persamaan kurva baku sehingga diperoleh kadar fenol total (X) (Nurwaini *et al.*, 2006). Penentuan kadar flavonoid total hampir sama dengan kadar fenolik total, namun kadar flavonoid total dihitung sebagai

ekivalen milligram quersetin per gram ekstrak (mg QE/gram ekstrak) (Rezaeizadeh *et al.*, 2011).

Untuk menentukan aktivitas antiradikal dengan metode DPPH adalah dengan menghitung nilai IC₅₀, yaitu besarnya konsentrasi sampel yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50 % melalui persamaan regresi linier yang dihitung dengan rumus :

$$\text{Aktivitas penangkap radikal bebas (\%)} = [(A_0 - A_1/A_0) \times 100] \quad (1)$$

(Rezaeizadeh *et al.*, 2011)

A₀ adalah absorbansi kontrol (larutan DPPH 0,1 mM) dan A₁ adalah absorbansi ekstrak sampel. Semakin kecil absorbansi sampel menunjukkan aktivitas penangkap radikal bebas yang semakin meningkat. Asam askorbat (vitamin C) digunakan sebagai standar referensi pada seri konsentrasi yang berbeda (7,8125; 3,9062; 1,9531; 0,9765; dan 0,4882 ppm). Nilai 50% konsentrasi penghambatan (IC₅₀) mengindikasikan sebagai konsentrasi efektif ekstrak sampel yang dapat menghambat 50% radikal bebas DPPH.

Cara menentukan aktivitas antiradikal dengan metode FTC dan TBA adalah dengan menghitung persentase inhibisi dari data absorbansi yang didapat dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = 100 - ((A_1/A_0) \times 100) \quad (2)$$

(Elmastas *et al.*, 2006)

A₀ adalah absorbansi kontrol dan A₁ adalah absorbansi larutan stok ekstrak yang dibaca tiap 24 jam sampai satu hari setelah absorbansi maksimalnya (untuk FTC). Sedangkan untuk TBA, A₁ merupakan absorbansi larutan stok ekstrak FTC pada hari ketujuh (hari terakhir FTC).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Terdapat dua ekstrak dengan dua macam metode pengeringan, yaitu ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan oven dengan suhu 40⁰ C (EA) dan ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan sinar matahari (EB) sebagai pembanding. Pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kadar air dalam daun. Daun kering yang dikeringkan dengan oven berwarna hijau dan mudah diremas, sedangkan daun kering yang dikeringkan dengan sinar matahari berwarna hijau cokelat sampai kehitaman serta memiliki tekstur yang agak alot bila diremas. Proses pengeringan daun dengan oven hanya memakan waktu 4 hari, sedangkan dengan

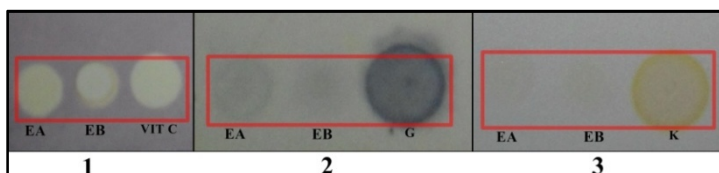
metode pengeringan sinar matahari memakan waktu 27 hari. Proses penyarian yang dilakukan dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Maserat yang dihasilkan dari ekstraksi daun yang dikeringkan dengan oven berwarna hijau sedangkan maserat dari daun yang dikeringkan dengan metode biasa berwarna hijau kecokelatan. Maserat yang telah didapatkan kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator. Warna maserat yang telah dipekatkan dari kedua metode pengeringan menjadi lebih tua dan lebih gelap. Ekstrak kental dibuat dengan menguapkan sisa pelarut dari maserat kental dengan penangas air pada suhu 60°C . Ekstrak kental yang dihasilkan dari dua macam metode pengeringan simplisia berwarna coklat gelap dan berkonsistensi lengket seperti gulali. Waktu yang diperlukan untuk menghasilkan EA adalah 6 hari sedangkan untuk EB adalah 16 hari. Rendemen yang didapatkan untuk EA dan EB adalah 2,22% dan 1,09% dari masing masing 2 kg daun basah

Adanya perbedaan tekstur daun yang telah kering, maserat, dan lama pembuatan ekstrak kental menunjukkan bahwa metode pengeringan yang berbeda untuk simplisia yang sama mempengaruhi karakteristik dan kandungan air dalam simplisia tersebut. Pengeringan dengan metode oven dapat menghilangkan kadar air dengan lebih maksimal dibandingkan dengan metode pengeringan dengan sinar matahari karena suhu panas yang dihasilkan dari alat oven selalu stabil dan merata selain itu dapat mencegah degradasi senyawa tertentu yang sensitif terhadap cahaya matahari

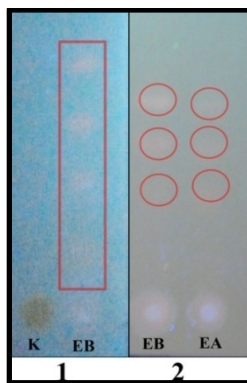
Pengujian kualitatif senyawa dalam ekstrak dilakukan dengan dua macam cara, yaitu dengan menggunakan reaksi semprot dan KLT (kromatografi lapis tipis). Cara uji keduanya sama sama menggunakan pelat silika. Uji Aktivitas antioksidan pada ekstrak secara kualitatif dilihat dengan penyemprotan dengan reagen semprot DPPH pada totolan ekstrak diatas KLT. Pembanding yang digunakan adalah vitamin C. Hasil uji reagen semprot DPPH menunjukkan bahwa EA dan EB positif memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas yang dibuktikan dengan munculnya warna putih kekuningan pada totolan ekstrak sama seperti senyawa vitamin C setelah disemprot dengan reagen tersebut. Untuk melihat bahwa senyawa yang bertanggung jawab terhadap efek penangkap radikal bebasnya adalah senyawa fenolik dan flavonoid, maka dilakukan uji dengan reagen semprot FeCl_3 dan sitroborat. Dengan senyawa standar asam galat (fenolik) dan kuersetin (flavonoid). Kedua ekstrak positif mengandung

senyawa fenol dan flavonoid yang ditunjukkan dengan munculnya kompleks warna pada totolan ekstrak setelah disemprot dengan reagen semprot masing masing meskipun kompleks warna yang terjadi tidak seintens senyawa standar pembanding. Warna kompleks terjadi karena adanya ikatan gugus hidroksi yang terdapat dalam senyawa dengan senyawa ferri dan senyawa sitroborat. Hal tersebut dikarenakan perbedaan letak gugus hidroksi pada senyawa sampel dan kemurnian dari senyawa sampel. Seluruh hasil uji dengan reagen semprot dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil analisis kualitatif dengan reagen semprot DPPH (1); reagen semprot FeCl_3 (2); dengan sitroborat (3); EA : ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan oven ; EB : ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan sinar matahari; VIT C : vitamin C ; G : asam galat ; K : kuersetin

Untuk melihat profil pemisahan sampel maka dilakukan uji kualitatif dengan metode KLT. Totolan ekstrak pada pelat silika dielusi dengan fase gerak campuran n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 4:1. Hasil elusi ekstrak dilihat fluoresensinya dibawah lampu UV 366. Profil pemisahan ekstrak tidak sama dengan senyawa standar kuersetin (Gambar 2). Kuersetin tidak dapat menghasilkan profil pemisahan dengan fase gerak yang digunakan untuk sampel dan memiliki perbedaan warna floresensi Hal ini membuktikan bahwa jenis flavonoid pada ekstrak berbeda dengan kuersetin, selain itu sifat kepolaran kuersetin dan sampel berbeda. Sampel kurang polar dibandingkan dengan kuersetin karena ketika dielusi, beberapa senyawa tertentu dalam sampel dapat memisah mengikuti fase geraknya yang cenderung kurang polar. Kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak adalah suatu antosianin sianidin yang terasilasi dan peonidin. Sifat kepolaran sampel, kemungkinan dipengaruhi oleh gugus fungsional metoksi yang terkandung di dalam strukturnya. Dalam percobaan ini digunakan senyawa standar kuersetin karena keterbatasan senyawa pembanding flavonoid yang terdapat di laboratorium. Senyawa standar flavonoid lain yang mungkin dapat digunakan sebagai senyawa pembanding dengan senyawa sampel adalah suatu senyawa sianidin, peonidin atau senyawa flavonoid dengan aglikon antosianidin karena memiliki struktur yang mirip.



Gambar 2. Hasil analisis kualitatif dengan KLT dengan fase gerak campuran n-heksan dan etil asetat (4:1); profil pemisahan senyawa standar kuersetin dengan EB (1); profil pemisahan EB dengan EA (2); K : Kuersetin; EB : ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan sinar matahari; EA : ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan oven.

Karena jenis flavonoid ekstrak berbeda dengan senyawa standar, maka profil pemisahan KLT EA tidak dibandingkan dengan senyawa standar tetapi dibandingkan dengan EB (Gambar 2). Pada sinar uv 366 nm, terlihat bahwa profil pemisahan KLT antara EA dan EB yang dielusi dengan fase gerak yang sama, memiliki profil pemisahan yang hampir sama pula. Perbedaan hanya terletak pada intensitas warna floresensinya saja. EA memiliki floresensi yang kurang intens dibanding EB. Hal tersebut mengindikasikan bahwa baik EA maupun EB memiliki kandungan senyawa yang sama namun EA memiliki jumlah kandungan senyawa yang lebih rendah dibanding EB.

Penentuan kandungan flavonoid total dihitung dengan menggunakan regresi linier yang didapatkan dari kurva baku kuersetin, sedangkan kandungan fenolik total dihitung dengan menggunakan regresi linier yang didapatkan dari kurva baku asam galat. Kadar flavonoid total dihitung sebagai milligram kuersetin per gram ekstrak sedangkan kadar fenolik total dihitung sebagai milligram asam galat per gram ekstrak. Kadar flavonoid total EA dan EB secara berurutan adalah sebesar 4,67 mg/g dan 8,041 mg/g.

Kebalikan dengan kadar flavonoid totalnya, kadar fenolik total EA 1,7 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kadar fenolik total EB. Kadar fenolik total EA sebesar 30,22 mg/g sedangkan kadar fenolik total EB sebesar 17,61 mg/g. Sehingga dapat disimpulkan bahwa walaupun kedua ekstrak tersebut memiliki sifat fisik yang sama serta profil kromatogram yang mirip, namun perbedaan pengeringan mempengaruhi jumlah kandungan senyawa metabolit sekundernya.

Meskipun kedua metode pengeringan daun menggunakan panas, namun perbedaan cara pengeringan dapat mempengaruhi jumlah kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Tekstur daun hasil pengeringan sinar matahari yang sedikit alot walaupun sudah beberapa waktu dikeringkan, menunjukkan bahwa kemungkinan masih terdapat kandungan air di dalamnya. Flavonoid antosianin yang terdapat dalam daun *I. batatas* merupakan suatu flavonoid yang terikat dengan suatu gugus gula. Gugus gula yang terikat menyebabkan flavonoid menjadi lebih mudah larut dalam air (Markham, 1988). Adanya kandungan air yang masih tersisa dalam simplisia dapat meningkatkan kadar air pelarut pada saat maserasi sehingga flavonoid yang tersari menjadi lebih banyak.

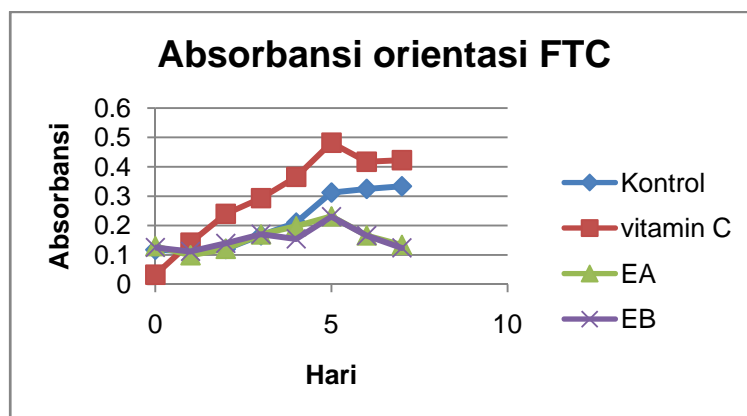
Tingginya kadar fenolik total dalam EA menunjukkan bahwa pengeringan dengan metode tersebut dapat mencegah terjadinya kerusakan senyawa fenolik karena pengeringan dengan oven hanya menggunakan suhu panas yang dihasilkan oleh pemanas serta tempat pengeringan yang lebih tertutup. Pengeringan dengan sinar matahari di udara terbuka dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya oksidasi dan degradasi senyawa fenol, sehingga senyawa fenol pada EB telah terdegradasi pada saat proses pengeringan. Hal inilah yang menyebabkan kadar senyawa fenolik total EB lebih rendah dibandingkan EA.

Metode DPPH merupakan salah satu cara untuk mengukur daya antioksidan suatu senyawa secara langsung. Dasar dari metode ini adalah penstabilan suatu radikal bebas sintesis, yaitu reagen DPPH dengan penangkapan hidrogen dari suatu senyawa antioksidan. DPPH yang merupakan radikal bebas akan stabil karena satu elektron bebasnya mendapatkan pasangan (Porkoni 2001 *cit* Cholisoh & Utami, 2008). EA memiliki IC_{50} sebesar 93,945 ppm dan EB memiliki IC_{50} sebesar 64,525 ppm. Vitamin C sebagai senyawa standar antioksidan memiliki IC_{50} terkecil sebesar 3,434 ppm.

Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang mengandung gugus hidroksi dimana gugus hidroksi inilah yang menjadi donor hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas DPPH. IC_{50} EA yang lebih kecil dibanding dengan EB kemungkinan berhubungan dengan kandungan senyawa flavonoid EA yang lebih rendah dibandingkan EB. Dalam strukturnya, gugus hidroksi pada senyawa flavonoid antosianin dalam daun ubi ungu lebih banyak dibandingkan dengan gugus hidroksi pada senyawa fenolatnya. Aktivitas penangkap radikal bebas dengan mekanisme dengan metode DPPH berhubungan erat dengan banyaknya jumlah

hidrogen yang disumbangkan oleh gugus hidroksi dari suatu senyawa antioksidan. Kandungan senyawa flavonoid EB yang lebih tinggi dibandingkan EA menyebabkan aktivitasnya dalam menghambat 50% radikal bebas lebih tinggi dibanding EA.

Uji FTC dan TBA merupakan cara pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan penghambatan terhadap peristiwa reaksi peroksidasi lemak. Sebelum dilakukan replikasi, dilakukan orientasi untuk mengetahui profil absorbansi percobaan. Profil absorbansi percobaan digunakan untuk mengetahui kapan terjadinya absorbansi maksimal dan penurunannya. Asam lemak yang digunakan pada percobaan ini adalah asam oleat dan senyawa standar yang digunakan adalah Vitamin C sedangkan kontrol adalah emulsi asam lemak tanpa menggunakan senyawa antioksidan. Profil orientasi menunjukkan absorbansi tertinggi terjadi pada hari kelima dan turun pada hari keenam, namun absorbansi tertinggi pada replikasi terjadi pada hari keenam dan turun pada hari ketujuh. Meskipun terdapat perbedaan hari untuk absorbansi maksimal orientasi dan replikasi pada metode FTC, namun baik EA maupun EB memiliki profil absorbansi yang mirip (Gambar 3).



Gambar 3. Profil absorbansi orientasi metode FTC; EA : Ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan oven; EB ; Ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan sinar matahari.

Hari keenam inkubasi didapatkan rata rata absorbansi tertinggi FTC untuk ketiga replikasi kontrol, vitamin C, EA dan EB secara berturut turut dengan pembacaan duplo sebesar 0,380, 0,448, 0,2765, dan 0,347. Persentase penghambatan ekstrak pada hari dimana absorbansi mencapai absorbansi tertinggi menunjukkan besarnya penghambatan terhadap jumlah maksimal peroksida yang terbentuk. Besarnya penghambatan vitamin C, EA dan EB terhadap peroksida yang terbentuk sebesar 0%, 27,24% dan 8,68%.

Senyawa malonaldehida adalah turunan senyawa peroksida yang terbentuk pada tahap kedua reaksi peroksidasi lemak. Asam tiobarbiturat dan asam trikloroasetat dalam metode TBA digunakan untuk mengetahui banyaknya senyawa malondialdehida yang terbentuk. Hasil FTC dikonfirmasi dengan hasil TBA. Hasil percobaan dengan metode TBA menunjukkan bahwa EA memiliki persentase daya hambat malonaldehida yang sedikit lebih besar daripada EB, yaitu sebesar 78,79% sedangkan daya hambat EB sebesar 76,03%.

Aktivitas antioksidan yang terdeteksi dengan metode TBA lebih tinggi dibandingkan dengan FTC. Kemungkinan disebabkan karena peroksida yang terbentuk pada tahap awal peroksidasi lipid jumlahnya lebih kecil dibandingkan pada jumlah turunan senyawa peroksida yang terbentuk pada tahap kedua. Selain itu produk turunan malonaldehida yang terbentuk lebih stabil pada beberapa waktu (Aqil *et al*, 2006). Vitamin C memiliki persentase penghambatan yang tidak sesuai dengan yang diharapkan baik dengan metode FTC dan TBA. Hal tersebut kemungkinan dikarenakan telah terjadi kerusakan pada vitamin C pada saat proses inkubasi pada suhu 40°. Vitamin C merupakan senyawa yang termolabil dan degradasinya akan sebanding dengan kenaikan suhu (Hartigan- Go, 1996) Meskipun pada percobaan suhu inkubasi tidak terlalu tinggi namun pemanasan yang dilakukan secara terus menerus selama 7 hari menyebabkan terjadinya peristiwa oksidasi pada senyawa tersebut. Vitamin C yang seharusnya menjadi suatu antioksidan dan mereduksi peroksida yang terbentuk, justru menjadi suatu oksidan reaktif karena teroksidasi.

Bila kita membandingkan IC₅₀ EA maupun EB antara ketiga metode, maka terdapat perbedaan yang signifikan antara metode DPPH, FTC dan TBA. seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, kandungan senyawa fenolik dan flavonoid total berhubungan dengan aktivitas antioksidan ekstrak bila diukur dengan metode DPPH namun belum dapat dipastikan bila pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode FTC dan TBA. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan mekanisme cara pengukuran kadar hambat radikal bebas pada kedua metode tersebut (Zahin *et al*, 2009). Pengukuran aktivitas antioksidan DPPH merupakan cara pengukuran aktivitas penghambatan radikal bebas secara langsung dengan radikal bebas sintesis DPPH. Untuk menentukan aktifitas suatu senyawa antioksidan dengan metode DPPH dilakukan pengukuran dengan beberapa seri konsentrasi. Sedangkan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode FTC dan TBA merupakan pengukuran

aktivitas penghambatan radikal bebas secara tidak langsung dan hanya menggunakan satu konsentrasi ekstrak. Radikal bebas yang dihambat dengan metode FTC dan TBA berupa senyawa peroksida dan senyawa malonaldehida yang dalam proses pembentukannya diperlukan perlakuan yang harus dikendalikan dengan baik. Adanya faktor faktor lain yang ternyata sulit untuk dikendalikan selama percobaan kemungkinan juga ikut mempengaruhi besarnya hasil pada metode FTC dan TBA.

Tabel 1. Perbandingan flavonoid dan fenolik total EA dan EB serta perbandingan IC₅₀ kedua ekstrak dengan ketiga metode; ; EA : Ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan oven; EB ; Ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan sinar matahari.

Ekstrak	Flavonoid total (mg/g QE)	Fenolik total (mg/g GAE)	IC ₅₀ dengan DPPH (ppm)	IC ₅₀ dengan FTC (ppm)*	IC ₅₀ dengan TBA (ppm)*
EA	4,67	30,22	93,9455	734,21	253,87
EB	8,041	17,615	64,525	2325,58	263,05

*) perhitungan secara matematika

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun ubi ungu (*I. batatas* L.) memiliki aktifitas penangkap radikal bebas. Senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktifitas antioksidannya adalah senyawa fenolik dan flavonoid. Pengeringan simplisia daun ubi ungu dengan oven lebih baik dibandingkan dengan pengeringan biasa. Kandungan total senyawa fenolik dan flavonoid memberikan korelasi terhadap aktifitas antioksidannya dengan metode DPPH, sedangkan untuk metode FTC dan TBA belum diketahui. Hal ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan mekanisme perhitungan penghambatan radikal bebas pada kedua jenis metode tersebut.

Besarnya aktifitas antioksidan ekstrak etanol dari daun ubi ungu (*I. batatas* L.) yang dikeringkan dengan oven (EA) yang diukur dengan metode DPPH memiliki IC₅₀ sebesar 93,9455 ppm sedangkan ekstrak dari daun yang dikeringkan dengan sinar matahari (EB) sebesar 64,525 ppm. Daya hambat EA terhadap peroksidasi lemak yang diukur dengan metode FTC dan TBA sebesar 27,24% dan 78,78%. Sedangkan ekstrak etanol dengan pengeringan biasa sebesar 8,68% dan 76,03%. Kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak etanol daun ubi ungu (*I. batatas* L.) dengan pengeringan oven sebesar 30,22 mg/g GAE dan

4,67 mg/g QE sedangkan ekstrak etanol dengan pengeringan biasa sebesar 17,615 mg/g GAE dan 8,041 mg/g QE.

SARAN

Sebaiknya digunakan senyawa standar yang lebih stabil terhadap pemanasan untuk percobaan pengukuran antioksidan dengan metode FTC dan TBA dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai korelasi jumlah kandungan senyawa flavonoid dan fenolik total terhadap mekanisme penghambatan radikal bebas karena peristiwa peroksidasi lemak.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Allah Subhanahuwata'ala, orang tua penulis atas doa, dukungan moril dan materil yang telah diberikan, serta seluruh pihak yang turut membantu sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aqil, F., Ahmad. I., Mehmood, Z., 2006, Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Twelve Traditionally Used Indian Medicinal Plants, *Turk J Biol* 30 (2006) 177-183.
- Cholisoh Z., Utami W., 2008, Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Ethanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*), *PHARMACON*, Vol. 9, No. 1, Juni 2008, 33–40.
- Fang YZ., Yang S., Wu G., 2002, Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition, *Nutrition* 18:872– 879.
- Hartigan-Go, K., 1996, Ascorbic Acid, <http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/ascorbic.htm> (diakses tanggal 30 Desember 2013)
- Hernani dan Nurdjanah R., 2009, Aspek Pengeringan dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder pada Tanaman Obat, *Perkembangan Teknologi TRO* 21 (2) Desember 2009 Hlm. 33-39.
- Hue S.M., Boyce, A.M., Somasundram, C., 2012, Antioxidant Activity, Phenolic and Flavonoid contents in the leaves of different varieties of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*), *AJCS* 6(3) ; 375-380 (2012).

- Islam S., 2006, Sweetpotato Leaf: Its Potential Effect on Human Health and Nutrition, *J. Food Sci.* 71:R13-R21.
- Islam I., Shaikh, A.U., Shahidul, I.M, 2009, Antioxidative and Antimutagenic Potentials of Phytochemical from *Ipomea batatas* (L.) Lam., *International Journal of Cancer Research* 5 (3): 83-94.
- Juanda D., Cahyono, B., 2000, *Ubi Jalar, Budidaya dan Analisis Usaha Tani*, 11,14, Yogyakarta, Penerbit Kanisius.
- Koncic M. Z., Petlevski R., Zdenka, 2012, Antioxidant Activity of *Ipomoea batatas* L. Lam. Leaf Grown in Continental Croatia and Its Effect on Glutathione Level in Glucose-Induced Oxidative Stress, *INT J FOOD PROP*, vol. just-accep, no. just-accep, DOI: 10.1080/10942912.2011.573117.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Bandung, Penerbit ITB.
- Porkoni, 2001, Antioxidant in Food ; Practical Applications, CRC Press, New York.
- Rezaeizadeh A., Zuki, A.B.Z., Abdollahi M., Goh, Y.M., Noordin, M.M., Hamid M., AzmiT.I., 2011, Determination of Antioxidant Activity in Methanolic and Chloroformic Extract of *Momordica charantia*, *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(24), pp. 4932-4940.
- Valko M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur,M., Telser, J., Free Radicals and Antioxidant in Normal Physiological Functions and Human Disease, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39 (2007) 44–84.
- Zahin M., Aqil, F., Ahmad,I., 2009, The *In Vitro* Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Four Indian medicinal Plants, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 1, Suppl 1, Nov.-Dec.